

**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

08/98/924

**Bescheinigung****PRIORITY DOCUMENT**

Frau Dr. Christiane L a u k in Mötzingen/Deutschland hat  
eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Im-  
munzellen in Abhängigkeit von einem Medikament"

am 12. Juli 1995 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wieder-  
gabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig das Symbol  
C 12 Q 1/04 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 1. August 1996

Der Präsident des Deutschen Patentamts

Im Auftrag

Agurks

Zeichen: 195 25 133.4



12.07.1995 Vo/De  
P 2941

Dr. Christiane Lauk 71159 Mötzingen

Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen in  
Abhängigkeit von einem Medikament

**Zusammenfassung**

Es wird ein Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen gegenüber Targetzellen in Abhängigkeit von einem Medikament vorgeschlagen. Dabei wird die Aktivität der Immunzellen mit Hilfe eines Farbstoffs ermittelt, der durch Umsetzung in lebenden Zellen seine Farbe ändert.

12.07.1995 Vo/De  
P 2941

1

Dr. Christiane Lauk, 71159 Mötzingen

Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen in  
Abhängigkeit von einem Medikament

Stand der Technik

Die Erfindung geht aus von einem Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen nach der Gattung des Hauptanspruchs.

Bei einem bekannten Verfahren wird der Einfluß der Mistelpflanze (*Viscum album*) auf die Aktivität der körpereigenen Immunzellen gegenüber Krebszellen untersucht (Naturwissenschaften 76, 530, 1989). Hierzu werden Krebszellen mit radioaktivem Tritium markiert und mit Immunzellen und Mistelextrakt vermischt. Nach einer gewissen Zeit wird die Radioaktivität des Gemischs im Überstand bestimmt, die einen Aufschluß darüber gibt, wieviele Krebszellen von den Immunzellen vernichtet worden sind. Der Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, daß radioaktive Isotope benötigt werden, daß die Genauigkeit von der Anzahl der untersuchten Zellen abhängt und daß die Durchführung des Verfahrens aufwendig und zeitintensiv ist.

12.07.1995 Vo/De  
P 2941

2

## Die Erfindung und ihre Vorteile

Demgegenüber hat das erfindungsgemäße Verfahren den Vorteil, daß anstelle der Markierung mit einem radioaktiven Isotop das Gemisch aus Immunzellen, Targetzellen und dem zu untersuchenden Medikament mit einem Farbstoff versetzt wird. Radioaktive Isotope werden nicht benötigt. Außerdem liefert das Verfahren auch bei einer relativ kleinen Anzahl von Zellen (weniger als 3.000) ein genaues Ergebnis. Es ist weniger aufwendig als Verfahren mit radioaktiven Isotopen und in der Durchführung wesentlich schneller. Das Verfahren kann mit jedem beliebigen Medikament durchgeführt werden. Das Ergebnis des Verfahrens gibt Aufschluß über einen möglichen Behandlungserfolg. So kann vor dem Verabreichen eines Medikaments mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens ermittelt werden, ob und wie der Patient auf das Medikament reagiert. Es können auch mehrere vergleichbare Präparate getestet werden, um dasjenige zu ermitteln, auf welches der Patient am meisten anspricht. Für derartige Untersuchungen wird dem Patienten Blut abgenommen, aus dem die Immunzellen isoliert werden. Diese Zellen werden mit speziellen Targetzellen beispielsweise mit virusinfizierten Zellen, mit Krebszellen oder mit normalen Zellen (autogene, allogene oder xenogene Zellen) und mit dem Medikament versetzt.

Nach einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung wird vorab zur Bestimmung der Grundaktivität eine spektroskopische Analyse des Gemischs aus Immunzellen, Targetzellen und Farbstoff durchgeführt. Durch den Vergleich des Testergebnisses mit und ohne Medikament kann der Einfluß des Medikaments auf die Aktivität der Immunzellen ermittelt werden.

12.07.1995 Vo/De  
P 2941

3

Nach einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung werden als Targetzellen Krebszellen verwendet. So kann insbesondere bei Krebspatienten der Einfluß eines Medikaments untersucht werden.

Nach einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung werden als Targetzellen virusinfizierte Zellen verwendet.

Nach einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung werden als Targetzellen normale Zellen (allogene, autogene oder xenogene Zellne) verwendet.

Nach einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung werden als Farbstoffe Tetrazoliumsalze verwendet.

Nach einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung wird das Tetrazoliumsalz MTT verwendet. Bei diesem Farbstoff handelt es sich um ein gelbes Tetrazoliumsalz. Durch die Dehydrase in den aktiven Mytochondrien lebender Zellen wird dieses gelbe Salz in blaue Formazankristalle umgewandelt. Diese Umwandlung vollzieht sich nur in lebenden Zellen und sie ist bei Immunzellen und Targetzellen unterschiedlich starkt. Mit Hilfe eines Spektrometers wird die Farbe der Probe ermittelt, welche wiederum Aufschluß darüber gibt, wieviele Targetzellen durch die Immunzellen vernichtet worden sind.

Weitere Vorteile und vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind den Ansprüchen entnehmbar.

Alle in der Beschreibung und den nachfolgenden Ansprüchen dargestellten Merkmale können sowohl einzeln als auch in beliebiger Kombination miteinander erfindungswesentlich sein.

12.07.1995 Vo/De  
P 2941

1

Dr. Christiane Lauk, 71159 Mötzingen

Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen in  
Abhängigkeit von einem Medikament

Ansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Immunzellen in Abhängigkeit von einem Medikament gekennzeichnet durch folgende Verfahrensschritte:
  - Isolieren von menschlichen oder tierischen Immunzellen,
  - Zugabe von Tragetzen,
  - Zugabe des Medikaments,
  - Zugabe eines Farbstoffs, der durch Umsetzung in lebenden Zellen seine Farbe ändert,
  - Spektroskopische Analyse des Gemischs aus Immunzellen, Krebszellen, Medikament und Farbstoff.

12.07.1995 Vo/De  
P 2941

2

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß vorab zur Bestimmung der Grundaktivität der Immunzellen eine spektroskopische Analyse des Gemischs aus Immunzellen, Targetzellen und Farbstoff durchgeführt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Targetzellen Krebszellen verwendet werden.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Targetzellen virusinfizierte Zellen verwendet werden.
5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Targetzellen normale Zellen (allogene, autogene oder xenogene Zellen) verwendet werden.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Farbstoff ein Tetrazoliumsalz verwendet wird.
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Tetrazoliumsalz der Farbstoff MTT verwendet wird.

**This Page Blank (uspto)**